

تأثير حقن HCG بمفرده او مع فيتامين E في الهرمونات التناسلية للنعاج العواسية

تمارة ناظق داود

مظفر نافع الصانع
كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد

سعاد عبد الامير الجشعمي

الخلاصة

16 نعجة عواسية غير حامل بعمر 1 - 1.5 سنة , قسمت عشوائيا الى مجموعتين متساوية (Vit. E + HCG , HCG). مجموعة Vit. E + HCG : جرعت النعاج ثلاث مرات 400 ملغم / نعجة من فيتامين E خلال الايام 0 , 7 , 14 و حقنت بالعضلة HCG 750 وحدة دولية / نعجة في اليوم 21 . مجموعة HCG: النعاج حقنت بالعضلة HCG 750 وحدة دولية / نعجة . في اليوم 21 . اخذت عينات الدم من الوريد الوداجي خلال الساعات 0 , 2 , 4 , 6 , 8 , و 10 لقياس تراكيز هرمون LH , FSH , الاستروجين و البروجسترون .

النتائج: زيادة معنوية ($p < 0.05$) بتراكيز هرمون LH , FSH و الاستروجين في النعاج خلال 10 ساعات بعد حقن HCG . نعاج مجموعة Vit. E + HCG اظهرت زيادة معنوية ($p < 0.05$) بمستوى LH , FSH و الاستروجين مقارنة بمجموعة HCG تركيز البروجسترون انخفض معنويا ($p < 0.05$) في النعاج خلال الساعات العشر بعد الحقن بـ HCG . نعاج مجموعة Vit. E + HCG اظهرت انخفاض معنوي ($p < 0.05$) مقارنة بنعاج مجموعة HCG

Abstract

16 non pregnant awassi ewes. 1 – 1.5 years old. Randomly divided into two equal groups (Vit. E + HCG , HCG). Vit. E + HCG group: the ewes were dosed with 400 mg / ewe orally for three times in days 0.7 , 14 , and intramuscularly injected with HCG 750 iu / ewe in day 21. HCG group: the ewes were intramuscularly injected in day 21. The blood samples were taken from the jugular vein at 0.2, 4, 6, 8, and 10 hrs. to measure the concentration of hormones LH, FSH . estrogen , and progesteron. The results: LH, FSH, and estrogen concentrations were significantly ($p < 0.05$) increased in ewes at ten hours after HCG injection. Ewes Vit. E + HCG group showed significantly ($p < 0.05$) increased in LH, FSH, and estrogen level than the HCG group. Progesterone concentration was significantly ($p < 0.05$) decreased in ewes at ten hours after HCG injection. Ewes group Vit. E + HCG showed significantly ($p < 0.05$) decreased than the ewes HCG group.

المقدمة

الهرمون المشيمي البشري المحرض للفند HCG من الهرمونات البروتينية الكاربوهيدراتية glycoprotein يبدء ظهوره في ادرار النساء الحوامل بعد 10-13 يوم من الاخصاب. وان تأثير كل من هرموني HCG و LH متشابه في تحفيز الحويصلات المبيضية وانضاجها (1 , 17) , حيث يعمل HCG على زيادة مواقع ارتباطه على المستقبلات المشتركة HCG / LH ويعمل على اعادة فعالية المستقبلات وان الفة ارتباط HCG بمواقع ارتباطه على المستقبل المشترك LH / HCG تبلغ اربعة اضعاف الفة ارتباط هرمون LH في نفس المواقع على المستقبلات (24) . اما هرمون FSH فهو هرمون كلايكونوتين ايضا ويعمل على تحريض النمو الحويصلي في المبايض ، ويحفز تطورها من المرحلة الغازية الى مرحلة ما قبل الاباضة (2) ويهيئ الحويصلات المبيضية النامية لتأثير هرمون LH والذي تحتاجه الحويصلة لاكتمال نموها ونضجها (3) من خلال زيادة الفعالية الاروماتية للاندروجينات (29) . يعمل HCG عند حقنه في نهاية الطور اللوثيني وطور قبل الشبق في النعاج على ارتفاع انتاج FSH وزيادة تركيزه في الدم من خلال تحفيزه نمو حويصلات مبيضية اكثر (1) وكنتيجة للتغذية الاسترجاعية الموجبة على الغدة النخامية وتحت المهاد (10) وتبلغ فعالية HCG 3 اضعاف فعالية FSH في تحفيز النمو الحويصلي (4) . وعند حقن HCG في بداية الطور اللوثيني يعمل على خفض الاحماض الامينية الداخلة في تركيب هرمون GnRH ومن ثم انخفاض انتاجه وبالتالي خفض انتاج FSH (19) ولاحظ Ocampo (23) عند حقن اناث الماعز بجرعة 21 ملغم /كغم من FSH ولمدة 4 ايام متتالية ، ومن ثم حقنها بهرمون HCG ، 1000 وحدة دولية بعد 48

ساعة من آخر جرعة لهرمون FSH أدى الى زيادة معدل الإباضة أكثر من الإناث المحقونة FSH فقط ، حيث تحفز الحويصلات المبيضية وتنمو نتيجة تأثير FSH في الخلايا الحبيبية ومن ثم حث مستقبلات LH/HCG واحداث الإباضة (15 , 26) .

ويعد هرمون الاستروجين من الهرمونات الاسترويدية ويفرز من المبيض (9 و 13) . ولهرمون HCG دور في مستوى تركيز الاستروجين اعتمادا على الطور الذي يحقن فيه . يؤدي عند حقنه في نهاية الطور اللوثيني الى خفض مستوى البروجسترون ويزيد من مستوى الاستروجين من خلال فعالية Cholesterol بواسطة Protein Kinase PKC (22) . و يؤدي حقنه في منتصف دوره الشبق الى زيادة تركيز هرمون البروجسترون ونقص الاستروجين (18) من خلال تأثيره على انزيم Cholesterol demolase ومن ثم رفع انزيم Protein Kinase A الى رفع تركيز البروجسترون (22) و يؤدي حقنه في النعاج العواسية الى ظهور الشبق وحصول اباضة بعد 72 ساعة (1) وعند حقنه قبل الإباضة يؤدي الى زيادة مستوى هرمون الاستروجين (20) وعند حقنه بعد حدوث الإباضة يعمل على الاسراع في تكوين الجسم الاصفر وادامته وزيادة افراز هرمون البروجسترون بوقت مبكر (5) ويعد هرمون HCG العامل الاساسي في تنظيم مستوى هرمون البروجسترون في النعاج المعاملة به (16) فعند حقن HCG في العضلة يحصل تحفيز في انتاج البروجسترون من خلال تأثيره على المرسال الاول Adenyl Cyclase والمرسال الثاني C Amp واللذين ينشطان فعالية انزيم 3-B Hydroxy Steroid Dehydylase ويعمل على تحويل Pregnenolone الى Progesterone مؤديا بذلك الى تراكم البروجسترون داخل الحويصلة (11) وان لهرمون البروجسترون دورا كبيرا في كبح افراز هرمون LH في النعاج ، اذ يعد الهرمون المنظم الرئيسي لدوره الشبق في الاغنام (6) حيث عند انخفاض تركيز البروجسترون في الدم يؤدي الى زيادة افراز الاستراديول الذي يحفز الارتفاع المفاجئ في هرمون LH بكميات كبيرة كافية لاحداث الإباضة للجريبة الناضجة (24) .

المواد وطريقة العمل

الرعي في حقول كلية الطب البيطري ، اضافة الى 750 غم جت / نعجة عند عودتها الى الحقل مساء مع 400 غم شعير مجروش / نعجة اجريت هذه التجربة في الحقل الحيواني التابع لكلية الطب البيطري جامعة بغداد . اعتمدت تغذية النعاج على مضافا اليها ملح الطعام وكاربونات الصوديوم مع توفير قوالب من مزيج الاملاح بشكل مستمر .

قسمت (16) نعجة عواسية غير حامل بعمر 1 - 1.5 سنة عشوائيا وبالتساوي الى مجموعتين ، مجموعة HCG حقنت بهرمون HCG 750 وحدة دولية بالعضلة في اليوم 21 ومجموعة VIT.E + HCG جرعت ثلاث مرات 400 ملغم/نعجة من فيتامين E خلال المدد صفر , 7 , 14 وفي اليوم 21 حقنت بهرمون HCG 750 وحدة دولية بالعضلة ثم سحب 5 مل من الدم من الوريد الوداجي قبل حقن الهرمون في الوقت 0 وبعدها كل ساعتين لغاية عشر ساعات صفر , 2 , 4 , 6 , 8 و 10 ساعة في اليوم 21 وضعت العينات في انابيب معقمة ومفرغة من الهواء وتم فصل مصل الدم لاجراء التحليلات اللازمة .

ولمعرفة تأثير هرمون HCG بمفرده او مع فيتامين E في مستوى هرموني LH و FSH في مصل الدم اجري الفحص الاشعاعي المناعي (IRMA) Immuno Radio Metric Assay وفق ماذكره (12) Freeman & Blaufox ولمعرفة تأثير هرمون HCG بمفرده او مع فيتامين E في مستوى هرموني الاستروجين والبروجسترون في مصل دم النعاج تم اعتماد طريقة الفحص الاشعاعي المناعي (RIA) Radio Immuno Assay (12) واتبع التحليل الاحصائي CRD وقورنت المتوسطات باستخدام t.Test عند مستوى (P < 0.05) (27) .

جدول (1) : يبين تأثير هرمون HCG في تراكيز هرمون LH للنعاج (ng/ml) ± الخطأ القياسي خلال عشر ساعات .

ساعة 10	ساعة 8	ساعة 6	ساعة 4	ساعة 2	ساعة صفر	
a 168.00 ± 15.55 B	a 164.00 ± 15.18 B	a 159.00 ± 14.72 B	a 109.00 ± 10.09 A	a 91.00 ± 8.42 A	* a 79.00 ± 7.31 * A	مجموعة HCG
b 271.00 ± 25.09 C	b 263.00 ± 24.35 C	b 258.00 ± 23.89 C	b 169.00 ± 15.65 B	b 138.00 ± 12.78 AB	a 119.00 ± 11.02 A	مجموعة Vit. E + HCG

النتائج والمناقشة

بعد حقن هرمون HCG 750 وحدة دولية / نعجة في كل من مجموعة HCG و مجموعة Vit.E+HCG في اليوم 21 من بدأ التجربة و حساب معدلات تراكيز الهرمونات FSH, LH, استروجين , بروجيستيرون و مقارنتها خلال المدد الزمنية صفر , 2 , 4 , 6 , 8 و 10 ساعة بعد الحقن مباشرة لوحظ ما يلي:-

في الجدول (1) نلاحظ زيادة في تركيز هرمون LH في المجموعتين خلال العشر ساعات بعد الحقن مع وجود زيادة ملحوظة بين الساعة 4 والساعة 6 وهذا يتفق مع ما توصل اليه Miyake (21) والاستمرار في الزيادة حتى الساعة 10 كما ولاحظ زيادة ($P < 0.05$) في مجموعة Vit.E + HCG عن مجموعة HCG خلال الساعات العشر حيث ان فيتامين E يزيد من تأثير HCG في انضاج الحويصلات و اباضتها (28) كما وكانت الزيادة (< 0.05) (P) بين الساعات ضمن المجموعتين

. جدول (2): يبين تأثير هرمون HCG في تراكيز هرمون FSH للنعاج (ng/ml) \pm الخطأ القياسي خلال 10 ساعات

ساعة 10	ساعة 8	ساعة 6	ساعة 4	ساعة 2	ساعة صفر	
a 202.00 \pm 5.37 F	a 186.00 \pm 4.94 E	a 161.00 \pm 4.28 D	a 99.00 \pm 2.63 C	a 78.00 \pm 2.07 B	* a 63.00 \pm 1.67 * A	مجموعة HCG
b 318.00 \pm 8.45 F	b 292.00 \pm 7.76 E	b 260.00 \pm 6.91 D	b 153.00 \pm 4.07 C	b 118.00 \pm 3.14 B	b 95.00 \pm 2.52 A	مجموعة Vit. E + HCG

من الجدول (2) يلاحظ تركيز FSH (ng/ml) :

. يلاحظ ان مستوى هرمون FSH ارتفع بشكل معنوي ($P < 0.05$) خلال الساعات العشر في مجموعة HCG ومجموعة Vit.E + HCG وكانت الزيادة اكبر ومعنوية خلال العشر ساعات في مجموعة Vit.E + HCG مقارنة بمجموعة HCG . وكانت الزيادة ملحوظة بين الساعة 4 والساعة 6 في المجموعتين . وكانت الزيادة حسابية بين الساعة 0، 2 والساعة 4 من جهة وكذلك بين الساعة 6، 8 والساعة 10 من جهة اخرى وكانت الزيادة معنوية ($P < 0.05$) بين الساعة 4، 0 وكذلك بين المدد الزمنية 6، 4، 0 ساعة مقارنة مع المدد الزمنية 6، 8، 10 وفي المجموعتين بعد حقن هرمون HCG حيث ان هرمون الاستروجين وكننتيجة للتغذية الاسترجاعية الموجبة (10) يؤثر في تحت المهاد وبالتالي زيادة انتاج هرمون GnRH والذي بدوره يؤثر على الغدة النخامية اضافة الى تأثير التغذية الاسترجاعية الموجبة عليها وبالتالي زيادة انتاج وافراز هرمون FSH (19) . وعليه و كما موضح في الجدول (3) تراكيز هرمون الاستروجين (pg/ml) :

جدول (3): يبين تأثير هرمون HCG في تراكيز هرمون Estrogen للنعاج (pg/ml) ± الخطأ القياسي خلال 10 ساعات

ساعة 10	ساعة 8	ساعة 6	ساعة 4	ساعة 2	ساعة صفر	
a 0.47 ± 0.01 E	a 0.65 ± 0.02 D	a 0.82 ± 0.02 C	a 1.38 ± 0.04 B	a 1.53 ± 0.04 A	* a 1.62 ± 0.04 * A	مجموعة HCG
b 0.75 ± 0.02 F	b 1.02 ± 0.03 E	b 1.31 ± 0.03 D	b 2.14 ± 0.06 C	b 2.32 ± 0.06 B	b 2.44 ± 0.06 A	مجموعة Vit. E + HCG

جدول (4): يبين تأثير هرمون HCG في تراكيز هرمون progesterone للنعاج (pg/ml) ± الخطأ القياسي خلال 10 ساعات

ساعة 10	ساعة 8	ساعة 6	ساعة 4	ساعة 2	ساعة صفر	
a 20.70 ± 1.38 B	a 19.35 ± 1.29 B	a 18.60 ± 1.24 B	a 13.55 ± 0.91 A	a 11.85 ± 0.79 A	* a 10.10 ± 0.67 * A	مجموعة HCG
b 32.40 ± 2.16 C	b 30.57 ± 2.04 C	b 29.80 ± 1.99 C	b 21.00 ± 1.40 B	b 18.01 ± 1.20 AB	b 15.25 ± 1.02 A	مجموعة Vit. E + HCG

يلاحظ زيادة في تركيز هرمون الاستروجين بعد حقن هرمون HCG في المجموعتين وكانت الزيادة معنوية ($P < 0.05$) في الساعات 10, 8, 6 مقارنة بالساعة 4, 2, 0 في المجموعتين ، وكانت الزيادة معنوية ($P < 0.05$) في تركيز هرمون الاستروجين في مجموعة Vit.E + HCG عن مجموعة HCG خلال المدد الزمنية .

ان للطور الذي يحقن فيه هرمون HCG اهمية كبيرة ، فاذا حقن في نهاية الطور اللوتيني يؤدي الى ارتفاع مستوى هرمون الاستروجين من خلال تأثيره في Cholesterol Demolase وبالتالي يحفز على زيادة انتاج الهرمون من الحويصلات النامية (22) كما وان HCG يعمل على تحفيز نمو الحويصلات المبيضية وزيادة عددها (1) وبالتالي زيادة افراز الاستروجين من الخلايا الحويصلية (8 و 10) . وكان مستوى هرمون البروجسترون (pg/ml) في جدول (4): نلاحظ انخفاض في تركيز هرمون البروجسترون في المجموعتين خلال الساعات العشر بعد حقن هرمون HCG مع وجود انخفاض ملحوظ بين الساعة 4 والساعة 6 والاستمرار بالانخفاض حتى الساعة 10 وتبين النتائج ارتفاع مستوى تركيز هرمون البروجسترون في مجموعة Vit.E + HCG عن مجموعة HCG خلال العشر ساعات حيث لوحظ وجود انخفاضات معنوية ($P < 0.05$) بين مجموعة HCG عن مجموعة Vit.E + HCG . ولم يلاحظ انخفاض معنوي بين الساعة 0 والساعة 2 في مجموعة HCG بينما كانت انخفاضات معنوية ($P < 0.05$) في الساعات الاخرى حيث استمر البروجسترون بالانخفاض ليصل الى ادنى مستوى له عند الساعة 10 ولكلا المجموعتين ، اما في مجموعة Vit.E + HCG فقد كانت الانخفاضات معنوية بين الساعات العشر .

انخفضت تراكيز هرمون البروجسترون بصورة معنوية في المجموعتين وخلال الساعات العشر بعد الحقن لان هرمون HCG يعمل على خفض انتاج البروجسترون خلال فترة تحفيزه لنمو حويصلي جديد بداية الطور قبل الشيق (14) من خلال تنشيط فعالية انزيم (PKC) Protein Kinasc (7) .

المصادر

- الجشعمي ، سعاد عبد الامير (1996) استخلاص وتقييم الهرمون المشيمي البشري المحفز للقتد (HCG) واستخدامه في تحسين الاداء التناسلي في الاغنام العواسية ، اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد .
- عجام ، اسماعيل كاظم ، السعدي ، حسين عبد الكريم والحكيم ، مرتضى كمال (1990) فلسفة التناسل والتلقيح الاصطناعي ، الطبعة الثانية المنقحة ، مطبعة التعليم العالي ، بغداد ، العراق بص 1-752 .
- عشير ، عبد الرحيم محمد و العلوجي . صباح ناصر (1989). علم الغدد الصم و التكاثر . بيت الحكمة , جامعة بغداد. ص 241-294 .
- Albert. A . and Kelly, S. (1958) . studies on the biologic characterization of human gonadotropins III . Comparison with sheep follicle stimulating hormone , J. Clin. Endocrinol . And Metab. ;18:1216-1222.
- Al-Muhammadi , M. O. (1998) . physiological studies on blood of a sample of pregnant women from Babylon Governrate , Ph.D.Thesis .Collage of science ,University of Babylon .
- Arthur , G.H. ; Noakes,D.E. and Pearson , H. (1985) . Veterinary reproduction and obstetric . 5th ed . Baillere . Tindall London.
- Delfiore , S.J. ; Hawkins . D . E ; Wiltbank , M.C and Niswender , S.D. (1994) . Regulation of cytochrome p450 SCC synthesis and Activity in the ovine corpus luteum . J . Steroid . Biochem . Biol . 51 : 203
- Driancourt, M. A ; Bodin,L. ; Boomarove , O. ; Thimonier , J. and Elsen . J.M (1990). Number of mature follicles ovulating after a challenge of human chronic gonadotropin in different breeds of sheep at different physiological stages .J.Anim Sci.86:719 .
- Eissa ,H.M. ; Serur , B.H. and Grunert ,E . (1987) . Effect of sex of the fetus onsteroid hormones level during pregnancy cattle . J. of the Egyptian Vet . Med Association , 47(1/2)279-289.
- Farin, S .E ; Mellor , C.L. ; Mayan , H ; Samboni , F ; Sawyer , HR. and Niswinder , S.D.(1988) . Effect of luteinizing hormone and human chronic gonadotropin on cell population in the ovine corpus luteum . Biol . Repro . 30(2):413.
- Foshidin, J. k ; Gibb, M., and Dobson, C .(1985) . Change in the concentrations of gonadotropin and estradiol hormone in natural fluid of ovarian follicle through out the estrous cycle of sheep . J. Reprod . Fertil . 80:57 .
- Freeman , L . M . and Blaufox M .D (1975) Radioimmunoassy . Ddept , of radiology , Albert Einstein college of medicine , Yeshiva University , Brony , New York .
- Hafez, E.S.E. (1980) Reproduction in farm Animals . 4th (Ed) Lea and febiger , Philadelphia. P 1-627.
- Helmer , S.D . and Birtt, J. H. (1987) . Hormone secretion and characteristics of estrous cycles after treatment of heifers with human chorionic gonadotropin or prostaglandin F2 during corpus luteum formation . J. Anim. SCI64:782
- 15- Hillier, SG. And Wickings . E.J. (1985) . Cellular aspects If corpus lutem function . In Jeffcoat S L (ed) the luteal phase . Chichester : John Wiely : 1-23 .
- Ishimura , K ; Youtinaga – Hirabayashi, T; Tsurumi, H. ; Kominami, S ; Rakemori , S. and Fujita, H (1990) . Immunity chemical and biochemical studies on the iocalization and changes of 17 hydroxylase /C17-C20 layase activity in immature rat ovary treated with PMSG and HCG . Histochemistry 94:225 .
- Julius, H. ; Rosenlund, B. ; Frirden, B. ; Levkov, L . ; Suikkari, A. ; Hovatta , O. and Fridstrm , M . (2003) . Recombinant LH is equally effective as recombinant HCG in promoting

- oocyte maturation in a clinical in vitro maturation programme :A randomized study . Human Reproduction, Vol. 18, No. 9, 1864-1867 .
- Lieberman, S ; Greenfield , N. J . and Wolfsan , A . (1984) . Heuristic proposal for understanding Steroidogenic process. Endocrinol Rev. 5: 128.
- Lie, Zm, and Roa , C.V. (1994). Novel presence of luteinizing hormone / human chorionic gonadotropin (HCG) hormone gene expression in immortalized hypothalamic GTI7 neurons .Mo. Endocrinol. 8(8); 1111.
- Masure,H.R. ; Jaffe W. L. ; Sickel , M.A. ; Birken, S ; Canfield , R. E . and Vaitukaitis , J. L . (2000) . Characterization of a small molecular size urinary immunoreactive human chorionic gonadotropin (HCG) – like substance produced by normal placenta and by HCG – secreting neoplasms . PMID: 6270179, MEDLINE. (Abstract) .
- Miyake, A. ; Aono , T. ; Kinugasa , Tanizawa , O . and Kurachi, O (2000) . The time course change after castration in short loop negative feedback control of LH by HCG in women . PMID:580527, MEDLINE . (Abstrcat) .
- Nephew , K. P . ; Sardenas , H . ; McClure , K . E . ; Ott , TL. ; Bazer, F.W. and Pope , W. F . (1994) . Effects of administration of chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep . J Anim . Sci 27 (2) :453 ;
- Ocampo , M. B ; Silvester, J. O. ; Ocampo, L . C. ; Reyes , R. O. ; Cruz, E. M. , Mamuad , F. V. and Villar, E.C. (2000) . successful transfer of goat embryos . PSAS 37th Annual Convention , Manila , Philippines , 18-19 October :2-3
- Peegel , H. ; Randolphs , JR. ; Midgley , A. R. and Menon , K.M. (1994) In situ hybridization of luteinizing hormonal human chorionic gonadotropin receptor messenger ribonucleic acid during hormone induced down regulation and the recovery in rat corpus luteum . Endocrinology, 135:1044.
- Scaramuzzi, R.J. and Land R . B. (1978) . Oestradiol levels in sheep plasma during the estrus cycle . J. Repro Fert . 53:167 .
- Spears, N. ; Murry , A.A . and Allison , V . (1998) . Role of gonadotropins and ovarian steroids in the development of mouse follicles in – vitro . J . reprod fertile . , 113:19-26
- Steel , R. G. D. and Torrie, J . H. (1980)principles and procedures of Statistics . 2nd ed McGraw Hill, New York .
- Takami,M. ; preston, S.L. ; Toyloy , V.A. and Behrman , H.R. (2002) antioxidants reversibly inhibit the spontaneous resumption of meiosis . Reprod . Biology Section , Dept . of Obstetrics /Gynecology and Of Pharmacology , Yale University , USA. (Abstract) .
- Themmen, A.P.N. and Huhtaniemi,L.T. (2000). Mutation of gonadotropins and Pathophysiology of pituitary – Gonadal function. Endocrine, Reviews, 21: 551 – 583.